Korean Journal of Environmental Agriculture

Korean J Environ Agric. 2020;39(4):343-351. Korean
Published online 2020 November 19. https://doi.org/10.5338/KJEA.2020.39.4.41

Online ISSN: 2233-4173
Print ISSN: 1225-3537

Research Article

Open Access

경기, 강원 지역 농업용수의 미생물학적 특성 및 농업용수 분리 대장균의 항생제 내성

황인준, 박대수, 채효빈, 김은선, 윤재현, 나겐드란 라자린감, 최송이, 김세리*

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀

Microbiological Quality and Antibiotic Susceptibility of *E. coli* Isolated from Agricultural Water in Gyeonggi and Gangwon Provinces

Injun Hwang, Daesoo Park, Hyobeen Chae, Eunsun Kim, Jae-Hyun Yoon, Nagendran Rajalingam, Songyi Choi and Se-Ri Kim* (Microbial Safety Division, Department of Agro-food Safety and Crop Protection, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea)

Received: 21 October 2020/ Revised: 29 October 2020/ Accepted: 12 November 2020

Copyright ⓒ 2020 The Korean Society of Environmental Agriculture
This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID
Injun Hwang
https://orcid.org/0000-0001-8960-9354

Se-Ri Kim
https://orcid.org/0000-0001-6857-8317

Abstract

BACKGROUND: Irrigation water is known to be one of the major sources of bacterial contamination in agricultural products. In addition, anti-microbial resistance (AMR) bacteria in food products possess serious threat to humans. This study was aimed at investigating the prevalence of foodborne bacteria in irrigation water and evaluating their anti-microbial susceptibility.

METHODS AND RESULTS: Surface water (n = 66 sites) and groundwater (n = 40 sites) samples were collected from the Gyeongi and Gangwon provinces of South Korea during April, July, and October 2019. To evaluate the safety of water, fecal indicators (*Escherichia coli*) and foodborne pathogens (*E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes*) were examined. *E. coli* isolates from water were further tested for antimicrobial susceptibility using VITEK2 system. Overall, detection rate of foodborne pathogens in July was highest among three months. The prevalence of pathogenic *E. coli* (24%), *Salmonella* (3%), and *L. monocytogenes* (3%) was higher in surface water, while only one ground water site was contained with pathogenic *E. coli* (2.5%). Of the 343 *E. coli* isolates, 22.7% isolates were resistant to one or more antimicrobials (ampicillin (18.7%), trimethoprim-sulfamethoxazole (7.0%), and ciprofloxacin (6.7%)).

CONCLUSION: To enhance the safety of agricultural products, it is necessary to frequently monitor the microbial quality of water.

Key words: Antimicrobial Resistance, Groundwater, Human Pathogenic Bacteria, Microbiological Quality, Surface Water

*Corresponding author: Se-Ri Kim
Phone: +82-63-238-3395; Fax: +82-63-238-3840;
E-mail: Seri81@korea.kr

서 론

신선 채소는 인간에게 비타민, 미량원소 및 섬유소를 공급하는 중요한 농산물이다. 하지만 최근 들어 신선 채소에 의한 식중독 사고가 잇따르면서, 신선채소의 미생물 안전성이 중요해지고 있다. 2018년부터 2020년 까지 미국에서는 병원성대장균에 오염된 로메인 상추로 인해 439건의 식중독 사고가 발생하여 206명의 환자와 5명의 사망자가 발생하였고 2020년 3월과 4월 사이에는 병원성대장균 O103에 오염된 새싹채소에 의해 51건의 식중독 사고가 발생하였다(Centers for Disease and Prevention(CDC), 2020). 농산물은 재배과정

중 병원성 미생물에 오염된 토양, 농자재, 농업용수에 의해 오염될 수 있으며, 수확 및 수확 후 처리과정에서는 작업환경과 작업자의 위생관리가 소홀할 때 오염될 수 있다[1]. 이 중 농업용수는 농산물의 가식부위에 직접 접촉되고 토양이나 농자재 등 농업환경에 오염원을 전파할 수 있기 때문에 농산물 식중독균 오염에 주된 요인으로 알려져 있다[2-4]. 앞서 언급한 2018년 미국 로메인 상추로 인한 식중독사고 역시 미국 질병통제예방센터(CDC, 2018)와 미국 식품의약국(U.S. Food and Drug Administration (FDA), 2018)의 합동 조사 결과 로메인 상추 재배지 수로에서 검출된 병원성 대장균과 식중독 발병환자의 분변에서 검출된 병원성 대장균의 유전형질이 일치하여 농업용수를 로메인 상추 오염원으로 추정하였다. 이처럼 농업용수는 농산물 안전관리에 매우 중요한 요인 중 하나이다. 현행 국내 농업용수 수질기준은 하천수질환경기준 중 4급수, 호수수질환경기준 중 4급수로 정하고 있으며 지하수는 지하수수질기준에 따라 농업용수의 수질기준을 설정해 두고 있다. 그러나 농업용수 기준은 pH, 전기전도도(Electrical conductivity; EC), 생물학적산소요구도(Biochemical oxygen demand; BOD), 화학적산소요구도(Chemical oxygen demand; COD) 등 이화학적 성분 기준은 설정되어 있으나 미생물에 대한 기준은 부재한 실정이다. 이에 반해 미국, 캐나다, 호주 등의 국가에서는 농업용수의 미생물 안전기준을 설정하여 농산물 안전관리를 강화하고 있다[5]. 따라서 국내 농업용수의 미생물 기준을 설정하기 위한 기초자료 마련을 위해 국내 농업용수에 대한 미생물 오염실태 조사를 추진하는 것이 시급한 실정이다.

뿐만 아니라 최근에는 항생제에 내성균이 농산물 안전의 위협으로 대두되고 있다. WHO 통계를 보면 매년 70만명 이상이 항생제 내성균에 의해 사망하는 것으로 알려져 있고, 그로 인한 경제적인 피해도 증가하는 추세이다[6]. 항생제 내성균은 항생제를 사용한 인간과 가축의 분변, 토양과 농업용수 등을 통해 농업환경으로 전파되고, 농업환경 내 전파된 항생제 내성유전자와 잔류 항생제 등을 통해서 토착미생물과 여러 병원균에 항생제 내성이 유도될 수 있다[7,8]. 이에 WHO와 FAO (The Food and Agriculture Organization)가 주도하는 국제식품규격위원회(Codex)에서는 농업분야 항생제 내성 최소화 실행지침을 설정하고 항생제 내성 통합 감시 체계 가이드라인을 제시해 항생제 내성 발생을 최소화 하고자 하고 있다(Ad hoc Codex Intergovernmental Task Force on Antimicrobial Resistance (TFAMR)). 안전한 항생제 사용 가이드라인 구축을 위해서는 농업환경 내 항생제 내성균 분포현황, 내성패턴, 오염경로 구명 등의 기초자료가 필요하다. 따라서 본 연구는 경기, 강원지역 농업용수 내 식중독균 오염도와 항생제 내성균을 조사하여 국내 농업용수의 미생물학적 안전성과 위해성 평가를 위한 기초자료로 활용하고자 수행하였다.

재료 및 방법

조사지점 및 시료수집

본 연구에 사용된 농업용수는 농촌진흥청에서 시행하고 있는 농업환경변동조사(환경부 수질오염공정시험기준. 환경부고시 제 2017-57호, 2017) 수질조사 지점 중 경기와 강원지역에서 채취하였다(Fig. 1). 지표수는 2019년 4월, 7월, 10월에 경기지역 32지점, 강원지역 34지점에서 비커봉(Angular beaker, Bürkle GmbH, Germany)을 이용해 중앙지점에서 수면으로부터 2m 이내의 물을 채취하였다. 또한 지하수는 지역별로 각각 20지점에서 2019년 4월과 7월에 채취하였으며 지하수 시료는 펌프를 5분 이상 가동하여 관정 내의 고인물을 제거한 후 무균채수병을 이용하여 채취하였다. 채취된 시료는 아이스박스에 넣어 실험실로 이송하여 4℃ 냉장고에서 보관 후 24시간 이내에 분석하였다.

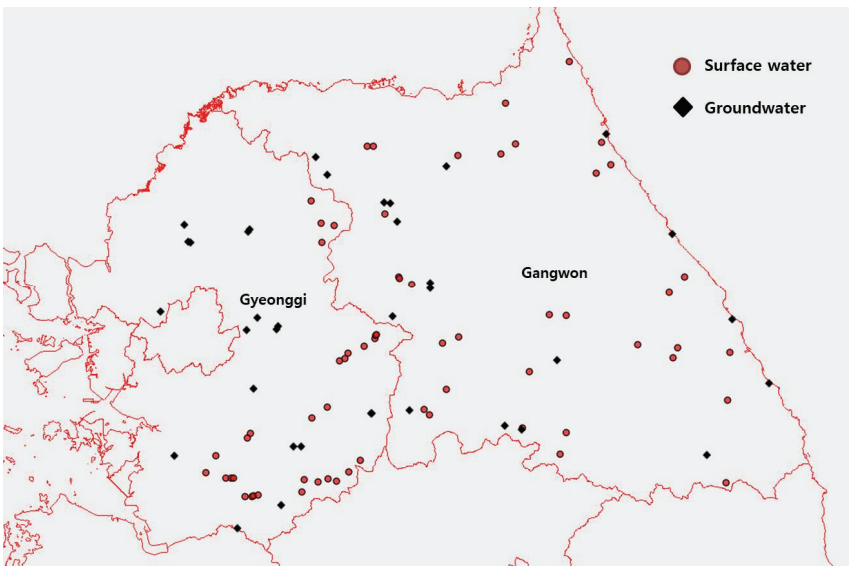

Fig. 1. Geographical sampling sites of Gyeonggi and Gangwon province, Republic of Korea.

식중독균 조사

채집한 시료로부터 식중독균 조사는 대장균을 비롯해 주요 식중독균인 *Escherichia coli* O157:H7 (*E. coli* O157:H7), *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*)을 대상으로 하였다. 시료 250 mL를 나이트로셀룰로스 여과막(pore size = 0.45 ㎛; Merck Millipore, Tullagreen, Ireland)에 여과시킨 후 여과막을 각각의 증균배지에 넣고 배양하였다. 대장균의 경우 여과막을 40 mL의 Buffered Peptone Water (BPW; Oxoid, Hampshire, England)에 넣고 37±0.5℃ 에서 24시간 배양한 후 증균된 배지를 1 mL 발효관을 넣은 9 mL의 *Escherichia coli* Broth (EC broth; Oxoid, Hampshire, England)에 접종하고 37±0.5℃에서 24시간 배양하였다. 이후 Eosin Methylene Blue (EMB; Oxoid, Hampshire, England) 배지에 획선 도말한 뒤 양성 집락를 순수분리 하였다. *E. coli* O157:H7은 여과막을 40 mL의 modified Tryptone Soya Broth (mTSB; Oxoid, Hampshire, England)에 넣고 37±0.5℃에서 4시간 배양한 후 noboviocin (Oxoid, Hampshire, England)을 20 mg/L 농도로 첨가하고 20시간 배양하였다. 이후 배양된 배지를 Chromogenic O157 Media (CHROMagar, Paris, France)에 획선 도말하고 양성 집락을 순수분리 하였다. *Salmonella*는 여과막을 40 mL의 BPW에 넣고 37±0.5℃에서 24시간 배양한 후 증균된 배지 1 mL을 9 mL의 Tetrathionate broth (TT broth; Oxoid, Hampshire, England)에 접종하고 37±0.5℃에서 24시간 배양하였다. 증균액을 Xylose Lysine Deoxycholate (XLD; Difco, Maryland, USA)에 획선 도말한 뒤 양성 집락을 순수분리 하였다. *L. monocytogenes*는 여과막을 40 mL의 *Listeria* Enrichment Broth(LEB; Difco, Maryland, USA)에 넣고 30±0.5℃에서 48시간 배양한 후 증균 된 배지 1 mL을 9 mL의 Fraser broth (Oxoid, Hampshire, England)에 접종하고 30±0.5℃에서 24시간 배양하였다. 양성 반응을 보인 시료를 Palcam (Oxoid, Hampshire, England) 배지에 획선 도말한 뒤 양성 집락을 순수분리 하였다.

각각의 선택배지에서 양성집락을 보인 *E. coli* O157:H7과 *Salmonella*는 Tryptic Soy Agar (TSA; Oxoid, Hampshire, England)에 접종하여 37°C에서 배양하고, *L. monocytogenes*는 0.6% yeast extract가 첨가된 TSA에 접종하고 30°C에서 배양하였다. 이후 VITEK2 system(bioMérieux, North Carolina, USA)과 상용화된 PCR kit (PowerChek™ Detection Kit; Kogenbiotech, Seoul, Korea)를 활용하여 최종 동정하였다.

대장균의 경우 대장균 병원성 검정 KIT (PowerChek™ Diarrheal *E. coli* Detection Kit; Kogenbiotech, Seoul, Korea)를 통해 병원성을 확인하였다.

농업용수 분리 대장균 항생제 내성 검정

농업용수에서 분리 동정된 대장균을 TSA에서 37±0.5℃에서 24시간 배양한 뒤 VITEK2 system AST-N224 card (bioMérieux, North Carolina, USA)를 통해 항생제 내성검정을 실시하였다. 항생제 내성검정은 VITEK2 AST-card를 이용해 MIC (최소억제농도)법에 준하였으며 CLIS Guidlines (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing) 기준에 따라 16가지 항생제에 대한 내성검정을 수행하였다. 항생제 내성검정에는 β-락탐계의 ampicillin (AMP), amoxicillin-clavulanic acid (AMC), piperacillin-tazobactam (TZP) 세파졸린계의 cefazolin (CFZ), cefoxitin (FOX), cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), cefepime (FEP) 모노박탐계의 aztreonam (ATM) 카바페넴계의 ertapenem (ETP), imipenem (IPM) 아미노글리코시드계의 amikacin (AMK), gentamicin (GEN) 플로르퀴놀론계의 ciprofloxacin (CIP), 테트라사이클린계의 tigecycline (TGC) 기타 합성제인 trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP/SMX) 항생제가 사용되었다.

결과 및 고찰

농업용수의 식중독균 오염도

경기, 강원지역의 농업용수 중 대장균 조사 결과는 Fig. 2와 Table 1에 나타냈다. 전체적으로 볼 때 하천수 66지점 중 63지점(95.5%)에서 대장균이 검출되었고 대장균이 검출된 63지점 중 40지점(63.5%)에서는 4월, 7월, 10월 중 2번 이상 연속적으로 검출되었고, 12지점(19%)에서 3번 연속 검출되었다. 지하수는 40지점 중 8지점(20%)에서 대장균이 검출되었고 대장균이 검출된 8지점 중 1지점(12.5%)에서 4월과 7월 연속적으로 검출되었다.

지역별로는 경기지역은 4월 하천수 32지점 중 8지점(25%), 지하수 20지점 중 2지점(10%)에서 대장균이 검출되었고 7월 하천수 31지점(96.9%), 지하수 4지점(20%)에서 대장균이 검출되었다. 10월은 하천수 22지점(68.8%)에서 검출되었다. 분리된 대장균 중 병원성 유전자를 갖는 균은 경기지역에서는 하천수에서만 검출되었는데 4월에 2지점(6.3%), 7월에 7지점(21.9%), 10월에 2지점(6.3%)에서 각각 검출되었다. 강원지역에서는 4월 하천수 34지점 중 6지점(17.6%)에서 대장균이 검출되었고 지하수는 20지점 모두 검출되지 않았다. 7월은 하천수 20지점(58.8%), 지하수 3지점(15%)에서 대장균이 검출되었다. 10월은 하천수 28지점(82.4%)에서 검출되었다. 병원성대장균의 경우 7월 지하수 1지점(5%)과 10월 하천수 4지점(11.8%)에서 검출되었다.

검출된 대장균 343균주 중 병원성대장균은 장병원성대장균(Enteropathogenic *E. coli*; EPEC)이 61%로 가장 많았고, 장독소성대장균(Enterotoxigenic *E. coli*; ETEC) 16%, 장침투성대장균(EnteroInvasive *E. coli*; EIEC) 11%, 장응집성대장균(Enteroaggregative *E. coli*; EAEC) 6%, 시가톡신 생성 대장균(Shigatoxigenic *E. coli*; STEC) 6% 순으로 분석되었고 *E. coli* O157:H7은 검출되지 않았다.

Listeria 조사 결과는 Fig. 3과 Table 2에 나타냈다. *Listeria*는 하천수 조사지점 66지점 중 54지점(81.8%)에서 검출되었다. *Listeria*가 검출된 54지점 중 23지점(42.6%)에

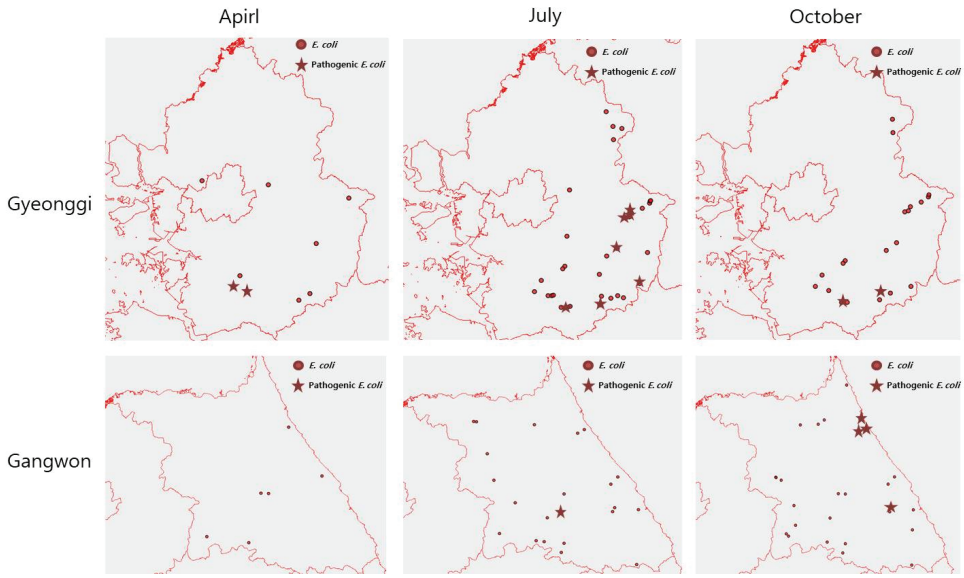

Fig. 2. Geographical detection sites of *E. coli* and pathogenic *E. coli*.

Table 1. Prevalence of *E. coli* and pathogenic *E. coli* in agricultural water in Gyeonggi and Gangwon provinces in Republic of Korea

(unit: No. of detection site/ No. of sampling site(%))

		April		July		October	
		SW*	GW*	SW	GW	SW	GW
Gyeonggi	*E. coli*	8/32 (25%)	2/20 (10%)	31/32 (96.9%)	4/20 (20%)	22/32 (68.8%)	N.A.*
	Pathogenic *E. coli*	2/32 (6.3%)	N.D.*	7/32 (21.9%)	N.D.	2/32 (6.3%)	N.A.
Gangwon	*E. coli*	6/34 (17.6%)	N.D.	20/34 (58.8%)	3/20 (15%)	28/34 (82.4%)	N.A.
	Pathogenic *E. coli*	N.D.	N.D.	N.D.	1/20 (5%)	4/34 (11.8%)	N.A.

*SW=Stream Water, GW= Groundwater, N.D.= not detected, N.A.= not analyzed

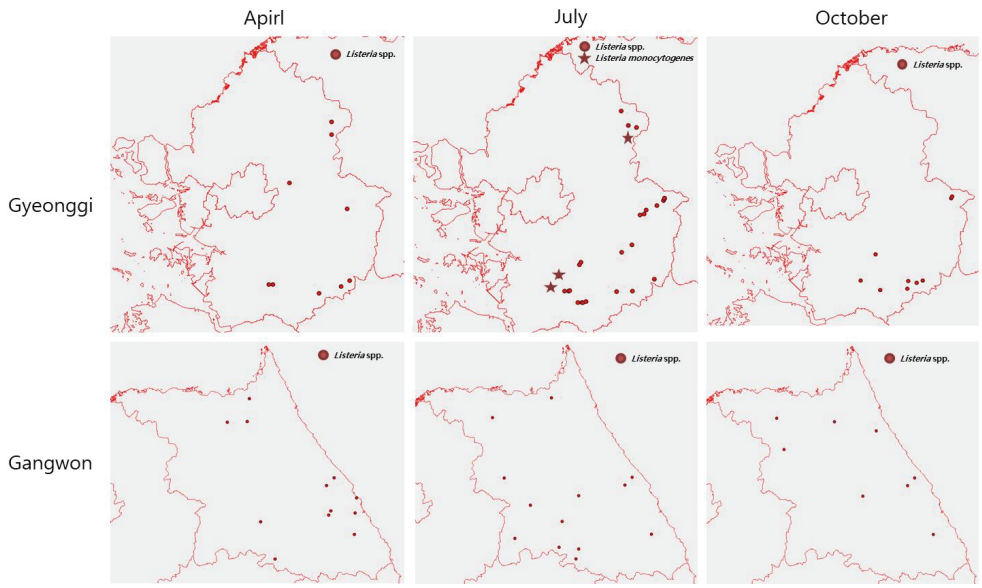

Fig. 3. Geographical detection sites of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes*.

Table 2. Prevalence of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* in agricultural water in Gyeonggi and Gangwon provinces in Republic of Korea

(unit: No. of detection site/ No. of sampling site(%))

		April		July		October	
		SW*	GW*	SW	GW	SW	GW
Gyeonggi	*Listeria* spp.	12/34 (35.3%)	1/20 (5%)	14/34 (41.2%)	N.D.*	9/34 (26.5%)	N.A.*
	L. monocytogenes	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.A.
Gangwon	*Listeria* spp.	9/32 (28.1%)	1/20 (5%)	28/32 (87.5%)	N.D.	9/32 (28.1%)	N.A.
	L. monocytogenes	N.D.	N.D.	3/32 (9.4%)	N.D.	N.D.	N.A.

*SW=Stream Water, GW= Groundwater, N.D.= not detected, N.A.= not analyzed

Table 3. Prevalence of *Salmonella* in agricultural water in Gyeonggi and Gangwon provinces in Republic of Korea

(unit: No. of detection site/ No. of sampling site(%))

	April		July		October	
	SW*	GW*	SW	GW	SW	GW
Gyeonggi	N.D.*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.A.*
Gangwon	1/34 (2.9%)	N.D.	1/34 (2.9%)	N.D.	N.D.	N.A.

*SW=Stream Water, GW= Groundwater, N.D.= not detected, N.A.= not analyzed

서는 4월, 7월, 10월 중 2번 이상 연속적으로 검출되었고 5지점(9.3%)에서는 3번 연속 검출되었다. 지역별로는 7월에 경기지역은 하천수 조사지점 32지점 중 28지점(87.5%) 강원지역은 하천수 조사지점 34지점 중 14지점(41.2%)에서 검출되어 4월, 10월 보다 높은 검출률을 보였다. 지하수에서는 4월에 두 지역에서 각각 20지점 중 1지점(5%)씩 검출되었다. 식중독균인 *L. monocytogenes*는 경기지역 7월 하천수 조사지점 32지점 중 3지점(9.4%)에서 검출되었다.

*Salmonella*는 강원지역은 4월, 7월 하천수 조사지점 34지점에서 각각 1지점(2.9%) 씩 검출되었다(Table 3).

위 결과를 종합해보면 경기, 강원지역 농업용수 모두 하천수가 지하수보다 식중독균의 검출률이 높게 나타났다. 계절별로보면 경기지역 대장균과 경기, 강원지역 리스테리아는 4월과 10월 보다 7월에 검출률이 높았고, 강원지역 대장균은 4월과 7월 보다 10월에 검출률이 높았다. 농업용수에서 식중독균 검출률에는 수온, 강수량, 수질변화, 주변 환경조건(야영지, 농경지 폐수 등) 등이 영향을 줄 수 있다. 병원성 대장균에 의한 식중독 사고와 기후요소간에 상관관계를 조사한 연구결과에 의하면 식중독사고는 최저, 최고기온과 강수량과 유의한 상관관계가 있고 계절별로 보았을 때 기온이 높고 강수량이 높은 여름철에 발병률이 높다고 보고하고 있다[9]. 기온은 미생물 생장에 가장 중요한 요소 중 하나로 기온이 높을수록 식중독균의 증식속도가 빨라진다는 것은 이미 여러 실험을 통해 잘 알려져 있고 본 실험결과도 기온이 높은 7월에 높은 검출률을 나타냈다[10,11]. 강우량은 물 환경에서 가장 중요한 요소 중 하나로 여겨지는데 강우가 증가하면 농경지, 축사, 주택밀집지역 등 다양한 경로에서 유기물질들과 식중독균이 하천으로 유입될 수 있다[12,13]. 조사시기인 2019년 경기지역 강수량 통계(기상청 기상자료개방 포털, 2019)를 살펴보면 강수량이 4월 44.36 mm, 7월 251.06 mm, 10월 56.66 mm 로 7월에 가장 높은 강수량을 보였고, 강원지역은 4월 71.15 mm, 7월 227.11 mm, 10월 153.4 mm로 역시 7월에 높은 강수량을 보였다. 본 실험결과는 [12]와 [13]의 실험과 같이 강수량이 높을수록 식중독균의 농도가 높아지는 결과를 보여 강수량이 식중독균 검출률에 영향을 주었을 것으로 판단된다[12,13]. 또한 강원지역 대장균의 경우 10월에 검출률이 높았고 병원성대장균 비율도 높게 나타났는데 이는 평년에 비해 유독 높았던 10월 강수량과 관련 있을 것으로 보인다. 검출 지점별로 보았을 때 대장균 하천수 검출지점의 63.5%(40/63), *Listeria* 하천수 검출지점의 42.6%(23/54)에서는 계절별로 2번 이상 연속적으로 검출되었다. 이는 점오염원이 존재할 수 있는 가능성을 나타내지만 더 정확한 판단을 위해서는 연속 검출 지점의 오염원 구명이 필요할 것으로 보인다. 물 환경 내 미생물에 미치는 요소는 매우 다양하기 때문에 농업용수 내 미생물 검출량 변화를 예측하기 위해서는 기온과 강수량을 비롯해 수온, 주변 오염원, 수생태계 등 다양한 요인들을 주기적으로 모니터링하고, 농업용수 오염도와 여러 환경요인 간의 상관관계에 대한 연구도 필요할 것으로 사료된다.

농업용수 분리 대장균 항생제 내성패턴

경기, 강원지역 농업용수에서 분리된 대장균 343균주에 대한 항생제 내성검정 결과는 Fig. 4와 Table 4와 같다. 즉, 농업용수 내에서 분리된 대장균 343균주 중 78균주(22.7%)

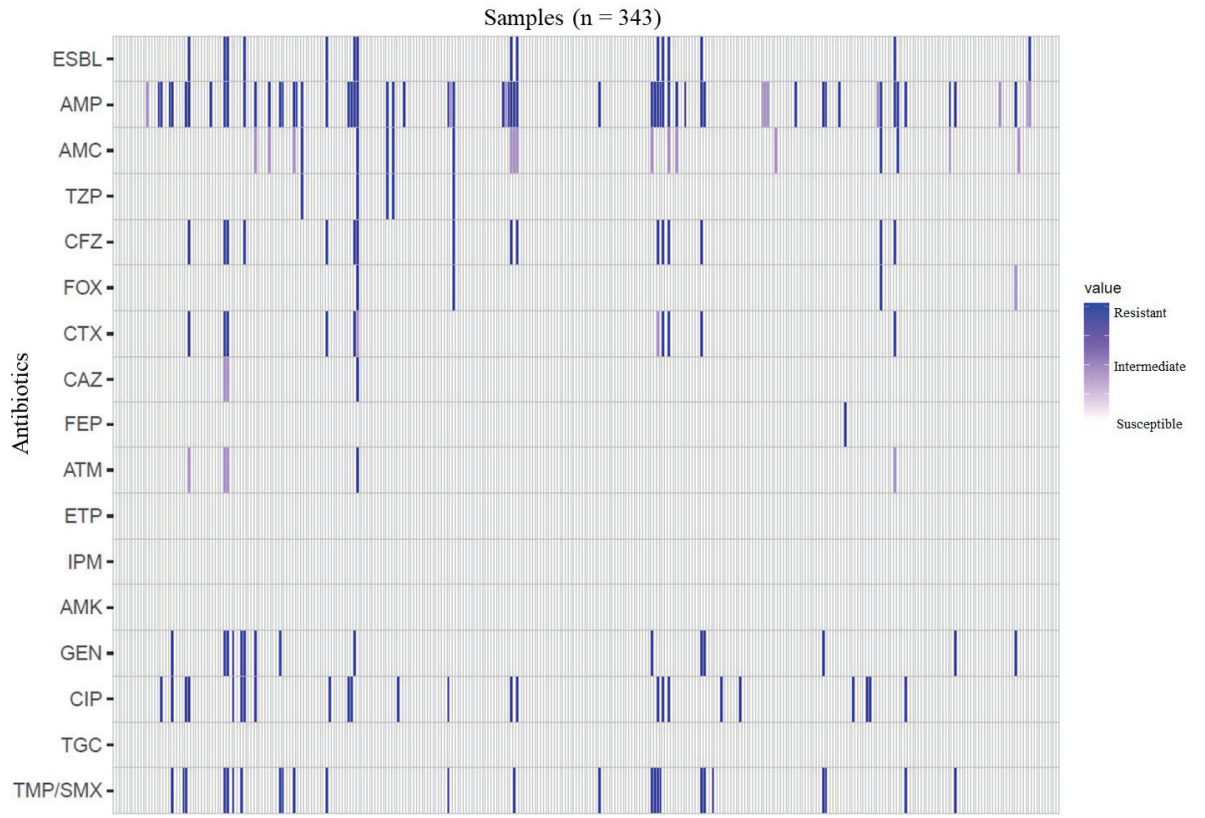

Fig. 4. Heat-map showing distribution of antimicrobial resistance *E. coli* isolated from agriculture water.

Table 4. Prevalence of antimicrobial resistance in *E. coli* isolates from agriculture water in Gyeonggi and Gangwon provinces in Republic of Korea

(Unit: %)

Site	Season	n		AMP	AMC	TZP	CFZ	FOX	CTX	CAZ	FEP	ATM	GEN	CIP	TMP/SMX
Gyeonggi	Apr.	46	R*	6.5	4.3	N.D.*	4.3	2.2	2.2	N.D.	N.D.	N.D.	2.2	6.5	N.D.
			I*	N.D.	2.2	N.D.*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.2	N.D.	N.D.	N.D.
	Jul.	122	R	19.7	3.3	3.3	5.7	0.8	4.1	0.8	N.D.	0.8	8.2	9	9
			I	0.8	2.5	N.D.	N.D.	0.8	0.8	1.6	N.D.	2.5	N.D.	N.D.	N.D.
	Oct.	38	R	28.9	N.D.	N.D.	10.5	N.D.	7.9	N.D.	N.D.	N.D.	7.9	7.9	18.4
			I	N.D.	7.9	N.D.	N.D.	N.D.	2.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Gangwon	Apr.	25	R	12	4	4	4	4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	4	4
			I	16	8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Jul.	61	R	9.8	N.D.	N.D.	3.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	4.9	1.6
			I	3.3	3.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Oct.	51	R	7.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2	N.D.	2	5.9	5.9
			I	5.9	2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Total		343	R	14.9	2	1.5	4.7	0.9	2.6	0.3	0.3	0.3	4.4	7	6.7
			I	2.9	3.5	N.D.	N.D.	0.3	0.6	0.6	N.D.	1.2	N.D.	N.D.	N.D.

*N.D. = Not detected, R = Resistant, I = Intermediate

Table 5. Antimicrobial resistant pattern of *E. coli* isolates from agriculture water

Multi-resistant pattern	Antimicrobial resistant pattern	n (%)
Resistance 1 CLSI subclass	AMP	20 (25.6)
	AMC	2 (2.6)
	CIP	7 (9.0)
	TMP/SMX	2 (2.6)
	FEP	1 (1.3)
Resistance 2 CLSI subclasses	AMP-AMC	4 (5.1)
	AMP-CIP	3 (3.8)
	AMP-TMP/SMX	5 (6.4)
	AMP-AMC-TZP	3 (3.8)
Resistance 3 CLSI subclasses	AMP-AMC-TMP/SMX	2 (2.6)
	AMP-FOX-GEN	1 (1.3)
	AMP-GEN-TMP/SMX	4 (5.1)
	AMP-CIP-TMP/SMX	3 (3.8)
	GEN-CIP- TMP/SMX	2 (2.6)
Resistance 4 CLSI subclasses	AMP-AMC-CFZ-FOX	1 (1.3)
	AMP-AMC-CFZ-CIP	2 (2.6)
	AMP-AMC-GEN-TMP/SMX	1 (1.3)
	AMP-AMC-GEN-CIP	1 (1.3)
	AMP-GEN-CIP-TMP/SMX	1 (1.3)
	AMP-CFZ-CTX-ATM	1 (1.3)
	AMP-CFZ-GEN-CIP	1 (1.3)
	AMP-CFZ-CTX-TMP/SMX	1 (1.3)
	AMP-CFZ-CTX-GEN	1 (1.3)
	AMP-CFZ-CTX-CIP	1 (1.3)
	AMP-AMC-TZP-CFZ-FOX	1 (1.3)
Resistance 5 CLSI subclasses	AMP-AMC-CFZ-CTX-CIP	1 (1.3)
	AMP-CFZ-CTX-ATM-CIP	1 (1.3)
	AMP-CFZ-CTX-GEN-TMP/SMX	1 (1.3)
	AMP-CFZ-CTX-CIP-TMP/SMX	1 (1.3)
Resistance 7 CLSI subclasses	AMP-CFZ-CTX-CAZ-ATM-GEN-TMP/SMX	2 (2.6)
	AMP-AMC-TZP-CFZ-FOX-CTX-CAZ-ATM	1 (1.3)
	Total	78 (100)

가 하나 이상의 항생제에 대해 내성을 보였다. 대장균 중 페니실린계 ampicillin 항생제에 대한 내성을 갖는 균주가 18.7% (64/343)로 가장 많았고, 플로르퀴놀론계 ciprofloxacin 항생제에 내성을 갖는 7.0% (24/343), 기타분류의 trimethoprim-sulfamethoxazole 항생제에 내성을 갖는 6.7% (23/343), 세파졸린계 ceftazidime 항생제에 내성을 갖는 4.7% (16/343) 순으로 높은 항생제 내성률을 보였다. 카바페넴계 항생제인 ertapenem과 imipenem, 아미노글리코사이드계 항생제인 amikacin과 테트라사이클린계 항생제인 tigecycline 에는 모든 균주가 감수성으로 나타났다(Fig. 4). 항생제 내성패턴은 Table 5와 같다. 모두 31개의 내성패턴이 관찰되었고 그 중 1가지 항생제에 저항성을 보인 경우에는 ampicillin에 저항성을 갖는 경우가 항생제 내성균 78균주 중 20균주(25.6%)로 가장 많았고, 2개 이상의 항생제에 내성을 보인 경우는 AMP-TMP/SMX 5균주(6.4%), AMP-AMC 4균주(5.1%), AMC-GEN-TMP/SMX 4균주(5.1%) 순으로 비중이 높게 나타났다. 다제내성균은 CLSI subclass 기준으로 보았을 때 2계통의 항생제에 내성을 보인 균주는 15균주(19%), 3계통 12균주(15%), 4계통 12균주(15%), 5계통 4균주(5%), 7계통 3균주(4%)로 나타났다.

지역별로 보면 경기지역에서 분리된 대장균 206균주 중 항생제 내성을 갖는 대장균은 49균주(23.8%)였고, 강원지역의 경우 분리된 대장균 137균주 중 내성균이 29균주(21.1%)였다. 항생제 다제내성균 비율은 경기지역에서 분리된 항생제

내성균 49균주 중 38균주(77.6%), 강원지역에서 분리된 항생제 내성균 29균주 중 8균주(27.6%)로 조사됐다. 요약하면 경기지역이 강원지역보다 항생제 내성균 분리균주 수와 비율 모두 높았고 다제내성균 비율도 높게 나타났다.

계절별로는 4월 분리 균주 76균주 중 16균주(21.1%), 7월 분리 균주 183균주 중 38균주(20.8%), 10월 분리 균주 89균주 중 24균주(27.0%)가 항생제 내성균이였다. 다제내성균 비율은 4월 분리 항생제 내성균 16균주 중 9균주(56.3%), 7월 분리 항생제 내성균 38균주 중 25균주(65.8%), 10월 분리 항생제 내성균 24균주 중 12균주(50%)였다. 요약하면 10월이 분리된 대장균에서 항생제 내성균 비율이 가장 높았고, 다제내성균 비율은 7월에 가장 높게 나타났다.

수계 내 항생제 내성균은 인간과 가축의 분변을 통해 유래되었거나 환경 내 잔류하는 항생제나 다른 항생제 내성균에 의해 유래되었을 수 있다[14,15]. 따라서 항생제 내성균의 비율과 종류는 항생제 사용량, 유입원과 유입량 등에 따라 달라질 수 있다. 국내 항생제 판매량을 보면 2018년 기준 penicillin 계열과 tetracycline 계열 항생제가 각각 약 259톤, 약 249톤으로 가장 많이 판매된 것으로 조사되었다(국가항생제 사용 및 내성 모니터링 보고서, 2018). 본 실험에서는 ampicillin (AMP), ciprofloxacin (CIP), trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP/SMX) 순으로 내성균 비율이 높게 나타났는데, 이는 가축 도체와 분변에서 검출된 대장균의 내성 양상과 비슷한 결과를 나타냈다. 국가항생제 사용 및 내성 모니터링 보고서(2018)를 보면 ampicillin (AMP)에 내성을 가진 대장균은 모든 축종의 분변(53.6%)과 도체(47.1%)에서 tetracycline에 이어 가장 높은 비율로 검출되었고, ciprofloxacin (CIP)에 내성을 가진 대장균은 가금류의 분변(65%)과 가금류 도체(69.1%)에서 높은 비율로 검출되었다. Trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP/SMX)에 내성을 가진 대장균은 모든 축종의 분변(32.3%)과 도체(26.3%)에서 높은 비율로 검출되었다. 농업용수에서 분리한 대장균과 축사에서 분리된 대장균이 유사한 패턴을 보이기 때문에 수계 내에 존재하는 항생제 내성균의 유입원이 축사와 연관이 되어 있을 것으로 추정된다. 또한 지역별, 계절별로 항생제 내성균 비율이 차이가 나는 것도 지역 및 계절별로 항생제 내성균의 유입원이 달라지기 때문으로 추측된다. 다만 내성균 유입원은 축사를 비롯해 병원, 요양시설, 야영지 등 다양하기 때문에 정확한 판단을 위해서는 내성균의 유입원 추적에 대한 연구가 필요할 것으로 보이고, 안전한 항생제 사용 가이드라인 구축을 위해 농업환경 내 항생제 내성균 분포현황, 내성패턴, 오염경로 구명 등의 기초자료 확보가 필요할 것으로 판단된다. 본 과제에서는 경기와 강원지역의 농업용수 내 존재하는 항생제 내성균 분포와 내성 패턴에 대해 조사 하였고 이 자료는 추후 가이드라인 설정에 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of "Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No. PJ01419401), National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

1. Jung Y, Jang H, Matthews KR (2014) Effect of the food production chain from farm practices to vegetable processing on outbreak incidence. Microbial Biotechnology, 7(6), 517-527. https://doi.org/10.1111/1751-7915.12178.
2. Van Der Linden I, Cottyn B, Uyttendaele M, Berkvens N, Vlaemynck G, Heyndrickx M, Maes M (2014) Enteric pathogen survival varies substantially in irrigation water from Belgian lettuce producers. International Journal of Environmental Research and Public Health, 11(10), 10105-10124. https://doi.org/10.3390/ijerph111010105.
3. Steele M, Odumeru J (2004) Irrigation water as source of foodborne pathogens on fruit and vegetables. Journal of Food Protection, 67(12), 2839-2849. https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.12.2839.
4. Allende A, Monaghan J (2015) Irrigation water quality for leafy crops: a perspective of risks and potential solutions. International Journal of Environmental Research and Public Health, 12(7), 7457-7477. https://doi.org/10.3390/ijerph120707457.
5. Uyttendaele M, Jaykus LA, Amoah P, Chiodini A, Cunliffe D, Jacxsens L, Holvoet K, Korsten L, Lau M et al. (2015) Microbial hazards in irrigation water: standards, norms, and testing to manage use of water in fresh produce primary production. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 14(4), 336-356. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12133.
6. Tagliabue A, Rappuoli R (2018) Changing priorities in vaccinology: antibiotic resistance moving to the top. Frontiers in Immunology, 9(1068). https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01068.
7. O'Brien TF (2002) Emergence, spread, and environmental effect of antimicrobial resistance: how use of an antimicrobial anywhere can increase resistance to any antimicrobial anywhere else. Clinical Infectious Diseases, 34, S78-S84. https://doi.org/10.1086/340244.
8. Hölzel CS, Tetens JL, Schwaiger K (2018) Unraveling the role of vegetables in spreading antimicrobial-resistant

bacteria: a need for quantitative risk assessment. Foodborne Pathogens and Disease, 15(11), 671-688. https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2501.

9. Kim JG (2020) Influence of climate factors on the occurrence of pathogenic escherichia coli food poisoning in Korea. Journal of Environmental Health Sciences, 46(3), 353-358. https://doi.org/10.5668/JEHS.2020.46.3.353.
10. Buchanan RL, Stahl HG, Whiting RC (1989) Effects and interactions of temperature, pH, atmosphere, sodium chloride, and sodium nitrite on the growth of listeria monocytogenes. Journal of Food Protection, 52(12), 844-851. https://doi.org/10.4315/0362-028X-52.12.844.
11. Membré JM, Leporq B, Vialette M, Mettler E, Perrier L, Thuault D, Zwietering M (2005) Temperature effect on bacterial growth rate: quantitative microbiology approach including cardinal values and variability estimates to perform growth simulations on/in food. International Journal of Food Microbiology, 100(1), 179-186. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.10.015.
12. Shehane SD, Harwood VJ, Whitlock JE, Rose JB (2005) The influence of rainfall on the incidence of microbial faecal indicators and the dominant sources of faecal pollution in a Florida river. Journal of Applied Microbiology, 98(5), 1127-1136. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02554.x.
13. Coulliette AD, Noble RT (2008) Impacts of rainfall on the water quality of the Newport River Estuary (Eastern North Carolina, USA). Journal of Water and Health, 6(4), 473-482. https://doi.org/10.2166/wh.2008.136.
14. Woolhouse MEJ, Ward MJ (2013) Sources of antimicrobial resistance. Science, 341(6153), 1460. https://doi.org/10.1126/science.1243444.
15. Watts JEM, Schreier HJ, Lanska L, Hale MS (2017) The rising tide of antimicrobial resistance in aquaculture: sources, sinks and solutions. Marine Drugs, 15(6), 158. https://doi.org/10.3390/md15060158.